

球根海棠金正日花高效繁殖体系的建立

王 淼, 吴春华, 孙丽娜

(辽宁省大连市农业科学研究院, 辽宁 大连 116036)

摘要:为促进秋海棠金正日花的规模化生产,以球根海棠(*Begonia tuberhybrida* Vosa)金正日花的叶片为外植体,研究植物细胞分裂素 6-BA、ZT、TDZ 和生长素 NAA 不同种类和浓度对金正日花试管苗增殖的影响。结果表明:最适诱导培养基是 MS+6-BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹,愈伤组织诱导率达 100%,不定芽诱导数达 7.2;最佳丛生芽分化培养基为 MS+6-BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹,增殖系数达 8.32;最适生根培养基是 MS+NAA0.3 mg·L⁻¹,生根率为 100%。

关键词:球根海棠-金正日;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S682 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)11-0016-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.11.0016

金正日花(*Begonia tuberhybrida* Vosa)为秋海棠科秋海棠属,是由日本园艺学家 Kamo Mototeru 经 20 余年多重杂交选育而成,其亲本主要有玻利维亚秋海棠、皮而斯氏秋海棠、朱红秋海棠、维奇秋海棠和戴维斯氏秋海棠。花色彩鲜红亮丽,高度重瓣,雌雄花同株,花径 10~20 cm(最大可达 25 cm),开 10~15 朵花,花期长达 120 d^[1]。该花已成功引入中国,曾多次亮相中国国际花卉园艺展览会并获得殊荣。金正日花的繁殖方式为扦插繁殖,但繁殖系数和成活率较低。本试验运用对比试验,研究了球根秋海棠金正日花叶片在愈伤组织的诱导、分化以及生根等过程中,不同基本培养基、不同激素浓度及配比等条件对其再生体系建立的影响,并进行了试管苗移栽基质驯化试验,掌握了一套完整的秋海棠-金正日花的高效繁殖体系,为秋海棠金正日花的规模化生产打下了基础,具有较高的开发价值。

1 材料与方法

1.1 材料

材料为大连瑛琦花木有限公司提供的一年生大花球根海棠金正日的新叶、叶柄。

1.2 方法

1.2.1 叶片愈伤组织诱导 取球根海棠幼叶,用自来水冲洗 2 h 后,置于超净工作台内,用 75%的

酒精消毒 3 s,再用 0.1% 的升汞进行表面灭菌 8~10 min,然后用无菌水冲洗 4 次,再用无菌纱布吸干其表面的水分。最后,将处理过的叶片切成 0.5~1.0 cm 的小块,接种到愈伤组织诱导培养基上。培养条件为 25 ℃、光照 12 h·d⁻¹、光照强度 2 000 lx^[2]。

1.2.2 不同激素对愈伤组织诱导的影响 分别添加不同浓度的 6-BA, NAA, 每个处理 20 瓶,每瓶 1 个外植体,观察愈伤组织产生时间,40 d 后统计出平均愈伤组织诱导率和平均出芽率。

1.2.3 不同激素对丛生芽分化的影响 愈伤组织诱导 60 d 后,将诱导出的愈伤组织切成小块,转接到分化培养基上,每个处理 10 瓶,每瓶 2 块,40 d 后统计平均增长率、分化不定芽数。

1.2.4 培养基成分对组培苗生根的影响 MS 培养基,分别添加 NAA 0、0.1、0.2 mg·L⁻¹ 浓度, IAA 0.1、0.2、0.3 mg·L⁻¹ 浓度,每处理 20 瓶,每瓶 4 棵,40 d 后统计出组培苗生根率,平均生根数,生长情况等。

1.2.5 不同基质对组培苗驯化移栽的影响 当组培苗高度 3 cm 左右,并有 2~3 条根时,即可驯化移栽。以球根秋海棠金正日花生根的试管苗作移栽对象,以蛭石、细沙、珍珠岩、沙和蛭石(1:1),蛭石和珍珠岩(1:1)为基质对球根秋海棠金正日花根苗进行驯化移栽试验,20 d 后统计成活率^[3]。

2 结果与分析

2.1 不同激素对愈伤组织诱导的影响

经消毒处理后的叶片,接种到愈伤组织培养

收稿日期:2016-09-02

第一作者简介:王淼(1985-),女,辽宁省大连市人,硕士,农艺师,从事植物生物技术研究。E-mail: 370101551@qq.com。

通讯作者:吴春华(1970-),女,吉林省延吉市人,博士,副研究员,从事植物组织培养生物技术研究。

基上,放入培养室内,MS+TDZ 0.5 mg · L⁻¹的培养基诱导率达到 100%,平均出芽数达 7.6;MS+6-BA1.5+NAA0.2 在培养 7 d,于叶片边缘产生愈伤组织,40 d 后,愈伤组织诱导率达到 100%,平均出芽率为 7.2;6-BA2.0+NAA0.2 组合的叶片褐化严重,影响了愈伤组织的形成和出芽率;当植物生长素为 0.2 mg · L⁻¹时,有利于球根海棠叶片外植体愈伤组织的诱导,随着 NAA 浓度的增大,球根秋海棠叶片外植体愈伤组织的诱导率 and 不定芽分生都随之提高:当 NAA 浓度提高到 0.4 mg · L⁻¹时,又抑制了愈伤组织的诱导,还会导致愈伤组织的过度生长,从而抑制了不定芽的分化;TDZ 的价格远高于 6-BA,结合价格考虑,认为 MS+6-BA1.5 mg · L⁻¹ +NAA0.2 mg · L⁻¹ 是球根秋海棠金正日花叶片外植体较理想的诱导培养基。

表 1 不同激素浓度对球根海棠金正日花愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of different auxin concentrations on callus inducing of *Begonia tuberhybrida* Vosa

处理/(mg·L ⁻¹) Treatments	愈伤组织诱导率/% Callus induction rate	产生愈伤组织时间/d Callus time	平均出芽数 Average number of sprouting
6-BA1.0+NAA0.2	80	12 b	3.3 b
6-BA1.5+NAA0.2	100	7 a	7.2 a
6-BA2.0+NAA0.2	100	15 b	3.7 b
6-BA1.5	45	14 b	2.2 c
6-BA1.5+NAA0.4	85	7 a	2.6 c
TDZ 0.5	100	7 a	7.6 a

2.2 不同激素对丛生芽分化的影响

从表 2 中可以看出,在 1.0~1.5 mg · L⁻¹时,随着 6-BA 浓度的升高,植株的繁殖系数逐渐升高,当 6-BA 浓度达到 1.5 mg · L⁻¹时,繁殖系数和株高达到 8.32 和 1.63 cm;而当 6-BA 浓度 2.0 mg · L⁻¹时,繁殖系数降低,且分化的丛生芽玻璃化严重,嫩茎矮小平均株高仅为 0.6 cm;而在不添加 NAA 的培养基中,分化出的丛生芽嫩茎矮小。在培养基中,添加少量 NAA,可以促进分化苗的生长。在 MS+ZT0.5 mg · L⁻¹中,繁殖系数和平均株高为 8.66 和 1.68 cm,但是考虑到 ZT 的价格较高,从而确定球根海棠丛生芽分化

的培养基是 MS+6-BA1.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹,繁殖系数较高,嫩茎生长旺盛。



图 1 球根海棠金正日花叶片在 6-BA1.5 mg · L⁻¹ + NAA0.2 mg · L⁻¹ 培养基中产生的不定芽

Fig.1 Adventitious shoots of leaves on medium of 6-BA1.5 mg · L⁻¹ +NAA0.2 mg · L⁻¹ of *Begonia tuberhybrida* Vosa



图 2 球根海棠金正日花叶片在 6-BA2.0 mg L⁻¹ + NAA0.2 mg L⁻¹ 上的褐化情况

Fig.2 Browning status of leaves on medium 6-BA2.0 mg · L⁻¹ +NAA0.2 mg · L⁻¹ of *Begonia tuberhybrida* Vosa

表 2 不同激素浓度对球根海棠金正日花丛生芽分化的影响

Table 2 Effects of different auxin concentrations on specializing of adventitious shoots

处理 Treatments	繁殖系数 Growth coefficient	株高/cm Plant height
0	0.72 f	0.46 d
6-BA1.0+NAA0.2	5.39 d	1.58 b
6-BA1.5+NAA0.2	8.32 b	1.63 a
6-BA2.0+NAA0.2	6.37 c	0.60 c
6-BA1.5	6.26 c	0.51 d
6-BA2.0	4.17 e	0.45 d
ZT0.5	8.66 a	1.68 a

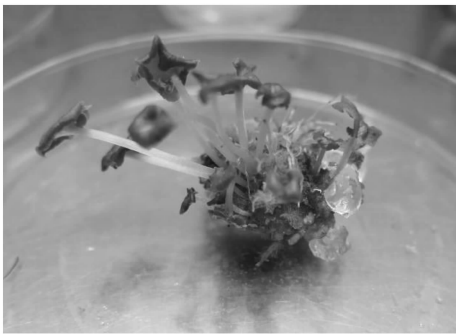


图 3 球根海棠金正日花不定芽在

6-BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹培养基的分化情况

Fig. 3 Specializing of adventitious shoots on medium
of 6-BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹

2.3 培养基成分对组培苗生根的影响

从表 3 中可以看出,随着 NAA 和 IBA 浓度的升高,生根率、平均生根数和根长都逐渐提高,当 NAA 浓度为 0.3 mg·L⁻¹时,生根率可达到 100%,平均生根数和平均根长分别为 9 和 13.6 mm,对于球根海棠而言,NAA 的生根效果略好于 IBA,形成的根粗壮,有利于提高移栽的成活率。

表 3 不同激素浓度对球根海棠金正日花生根的影响

Table 3 Effects of different auxin concentrations on rooting of *Begonia tuberhybrida* Vosa

性状 Characters	NAA 浓度/(mg·L ⁻¹)			IBA 浓度/(mg·L ⁻¹)		
	NAA concentration			IBA concentration		
	0.1	0.2	0.3	0.1	0.2	0.3
生根率/% Rooting rate	82	93	100	78	86	95
平均生根数/条 Average rooting number	4 c	7 b	9 a	3 d	5 c	8 ab
平均根长/mm Average root length	6.1 e	9.6 c	13.6 a	6.5 e	8.6 d	10.9 b

2.4 不同基质对组培苗驯化移栽的影响

将生根的组培苗,炼苗 7 d 后,用 0.1%的高锰酸钾溶液浸泡 5 min 后,移栽到 5 种不同的基质中。从表 4 中可以看到,移栽基质对试管苗移栽成活率的影响差异显著,以蛭石、细沙为基质较好,幼苗健壮,移栽成活率可达 85.4%和 76.9%。其它处理中,幼苗生长细弱。因此,蛭石是球根海棠最佳的移栽基质。

表 4 不同基质对球根海棠金正日花组培苗驯化移栽的影响

Table 4 Effects of different basic material on acclimatization and transplant

基质成分 Stromal element	成活率/% Survival rate	生长情况 Growth situation
蛭石 Vermiculite	85.4 a	健壮
珍珠岩 Sand	42.1 a	稍细弱
细沙 Silver sand	76.9 b	健壮
沙:蛭石(1:1) Sand:vermiculite(1:1)	56.3 c	稍细弱
蛭石:珍珠岩(1:1) Vermiculite:perlite(1:1)	54.8 c	细弱

3 结论与讨论

诱导球根海棠金正日愈伤组织适合的培养基是 MS+6-BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹,丛生芽分化适合的培养基是 MS+6-BA1.5 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹和 ZT0.5 mg·L⁻¹,球根海棠生根适合的培养基是 MS+NAA0.3 mg·L⁻¹。在蛭石基质中,组培苗成活率可达 85.4%,是球根海棠及整日组培苗移栽驯化的最佳基质。

生长素对生长的促进作用主要是促进细胞的生长,特别是细胞的伸长,对细胞分裂没有影响,较低浓度促进生长,较高浓度抑制生长。细胞分裂素的生理作用主要是引起细胞分裂,诱导芽的形成和促进芽的生长。德国海德堡大学细胞生物学家扬·罗曼教授领导的研究小组发现,细胞分裂素与植物生长素有协同作用,这与本试验的结果相符合^[4]。

本试验摸索添加了 TDZ、ZT 等细胞分裂素。ZT(玉米素)是一种天然的细胞分裂素,它是从甜玉米灌浆期的籽粒中提取并结晶出的第 1 个天然细胞分裂素。TDZ 是一种新型植物生长调节剂,具有很强的细胞分裂素活性(CTK),它的 CTK 活性要比一般 CTK 高几十倍至几百倍,研究表明:它可以促进植物芽的再生和繁殖,打破芽的休眠,促进种子萌发,促进愈伤组织生长,延缓植物衰老等。各种细胞分裂素的活性有差异,例如在促进生长的生物试验中,天然的细胞分裂素如玉米素、异戊烯腺嘌呤,比人工合成的细胞分裂素如 6-苄氨基嘌呤和激动素高,这与本试验的结果相一致。但是 TDZ、ZT 的价格高于 6-BA,至于在生产成本、繁殖效率方面,还需要进一步深入研究。

黑龙江北部早熟区玉米增密试验

何长安,刘兴焱,杨耿斌,纪春学,王 辉,张 恒
(黑龙江省农业科学院 克山分院,黑龙江 齐齐哈尔 161606)

摘要:为筛选出黑龙江北部早熟区耐密、高产的玉米品种,于2013-2015年开展玉米品种耐密性鉴定试验。结果表明:年际之间不同气候条件是影响增密试验结果的主要因素,增密条件下可使穗长等农艺性状产生规律性差异,此外,双密度关联分析更能准确评价品种耐密性,筛选出东农254、绿单2号、龙育11等玉米耐密高产品种,最后基于试验现状对进一步的试验及育种工作提出展望。

关键词:玉米;双密度关联分析;耐密性

中图分类号:S513 文献标识码:A 文章编号:1002-2767(2016)11-0019-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.11.0019

我国玉米生产成本中人工费用占比在35%左右,说明机械化水平一直低下,生产粗放,玉米产量的提高主要依靠玉米面积的扩大,单产提高依靠高肥水因素大于品种的贡献,成果技术增产和成果技术节本潜力挖掘不足。但随着农村城镇化改革的深入、农村劳动力持续转移,土地规模化经营,生产力因素、生产方式不断进步,导致农业

机械化程度加大,适当增密可以在一定范围内增加产量、扩大效益的意识早已在农民心中形成。耐密、抗逆、稳产的适合机械化的玉米品种已是科研热点与生产选择方向。

目前黑龙江省第三、四积温带生产上活跃的早熟玉米品种很多,但品种在耐密性、适合机械化上又良莠不齐,如何鉴定品种的抗逆性和稳产性,从而以此为依据引导农民种植适宜当地的高效、优质、抗逆玉米品种,调整品种结构,降低生产风险。本试验于2013-2015年利用双密度关联分析方法对近年的苗头玉米新品种进行了耐密性的评价及相关探讨。

收稿日期:2016-10-08

第一作者简介:何长安(1983-),男,黑龙江省汤原县人,学士,助理研究员,从事极早熟玉米育种研究。E-mail: corn_he@163.com。

参考文献:

- [1] 李濛,王会星,刘洋,等.金正日花叶片组培的初步研究[J].吉林农业,2013(10):14.
- [2] 史奎章.球根海棠组织培养试验研究初报[J].农业与技术,2014(3):21.
- [3] 宋仪农.球根秋海棠金正日花组织培养再生体系的研究[D].泰安:山东农业大学,2007.
- [4] 周余华,祁李发.球根海棠优化组培技术研究[J].安徽农业科学,2003,31(5):733,735.

Establishment of Highly Efficient Propagation System of *Begonia tuberhybrida* Vosa

WANG Miao, WU Chun-hua, SUN Li-na
(Dalian Academy of Agricultural Sciences, Dalian, Liaoning 116036)

Abstract: In order to promote the large-scale production of *Begonia tuberhybrida* Vosa, taking the leaves of *Begonia tuberhybrida* Vosa as explant, different concentrations of kinetin, 6-BA, ZT, TDZ and NAA was added to MS medium to optimize the culture medium, and the tissue culture and plant regeneration were studied. The optimal medium for inducing callus was MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹, which the inductivity could reach to 100%, adventitious bud induction coefficient achieved at 7.2. The shoots specialized perfectly on medium of MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹, for the growth coefficient achieved at 8.32. The best medium for rooting was MS+NAA 0.3 mg·L⁻¹, which rooting rate approached to 100%.

Keywords: *Begonia tuberhybrida* Vosa; tissue culture; rapid propagation